

**Menge und Verteilungsmuster
von löslichen Fibrinmonomerkomplexen
während des frühen Wochenbettes**

Anton Erich Wiedemann

1976

Aus der I. Frauenklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. J. Zander

Menge und Verteilungsmuster von löslichen Fibrinmonomerkomplexen
während des frühen Wochenbettes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Anton Erich Wiedemann
aus Dürrlauingen

München 1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. med. H. Graeff

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. med. J. Zander

Dekan:

Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

4. 5. 1976



Inhaltsverzeichnis

<u>Einleitung</u>	1
<u>Ätiologie und Pathogenese</u>	4
Stase des Blutes	4
Veränderung der Blutzusammensetzung	5
Gefäßinnenwandveränderungen	6
<u>Hypercoagulabilität</u>	6
<u>Material und Methoden</u>	8
Blutabnahme	8
Arbeitsgang	9
Thrombozytenzählung	10
Herstellung von plättchenarmem Plasma	10
Äthanoltest	10
Fibrinogenbestimmung	12
B-Alaninfallung	13
Polyacrylamid(PAA)-Gelelektrophorese	14
Agarose-Gel-Filtration	15
Staphylokokken-Clumping-Test	21
Statistische Auswertung	22
<u>Ergebnisse</u>	23
Äthanoltest	23
Fibrinogen	28
Thrombozyten	30
Lösliche Fibrinmonomerkomplexe (LFMK)	34
Gel-Elektrophorese	38
Staphylokokken-Clumping-Test	39
<u>Tabelle 1</u>	40
<u>Diskussion</u>	41
<u>Zusammenfassung</u>	45
<u>Literatur</u>	46
<u>Lebenslauf</u>	51
<u>Danksagung</u>	52

Einleitung:

Eine gleichermaßen gefürchtete wie bislang nicht vorhersehbare Komplikation post operationem und auch post partum ist die Embolie. 50 % aller Thromboembolien traten wie ein "Blitz aus heitrem Himmel", ohne jegliche Prodromi, ja sogar ohne anamnestische Anhaltspunkte auf. Auch besteht die größte Verschleppungsgefahr eines Thrombus dann, wenn er noch keine klinischen Symptome gemacht hat.

Ludwig spricht von 2 tiefen Beckenvenenthrombosen bei einer Gruppe von 1000 Wöchnerinnen, Strobel von 1.7 ‰ tiefen Venenthrombosen bei frisch entbundenen Patientinnen (28).

Die mütterliche Mortalität im Wochenbett beträgt 1:1000. Eine von 10 000 Wöchnerinnen verstirbt an thromboembolischen Erkrankungen (32).

In einer großen amerikanischen Statistik über knapp 200 000 Geburten kann man lesen, daß in 9.8 pro 1000 Geburten die thromboembolische Erkrankung eingetreten ist.

5.3 ‰ waren oberflächliche, 4.3 ‰ waren tiefe Thrombosen (6).

Allgemeinchirurgische Stationen verlieren 1.4 ‰ ihrer Patienten durch Lungenembolien. Die Häufigkeit schwankt zwischen 0.2 ‰ nach Exzision kleiner Hauttumoren bis 16.7 ‰ nach Magenresektion wegen Karzinomen (16).

Die durchschnittliche Lungenembolie-Sterberate nach gynäkologischen Operationen beträgt sogar 1.5 - 2.2 ‰.

Man rechnet damit, daß rund 2 von 3 Embolien die Lunge betreffen (32,16). Die Pathologen wissen sogar von noch höheren Zahlen zu berichten. So waren bei 2.7 % aller 14 000 vorgenommenen Sektionen in Marburg von 1925 bis 1955 Lungenembolien Todesursache und bei 4.65 % zeigten sich Lungenembolien als Nebebefund (26).

Andere Stellen in der Literatur sprechen vom Embolietod als der fünfthäufigsten Todesursache überhaupt (4), oder daß gar 25 % aller Todesursachen auf allen chirurgischen und internen Stationen der thromboembolischen Krankheit zuzuschreiben sind. Jede zweite tiefe Beinvenenthrombose führt zur Embolie (1).

Wie schwierig die Diagnose einer Embolie für den behandelnden Arzt ist, kann man aus folgenden Zahlen ersehen: 33 - 71.6 % aller autopsisch gesicherten Embolien sind klinisch nicht erkannt worden,

14 - 50 % aller klinisch als "tödliche Embolie" diagnostizierten Patienten hatten bei der Autopsie keine Embolie. Zwar konnte die Emboliefrequenz mit Hilfe des Frühaufstehens nach Operationen, sowie Gymnastik und kreislaufstabilisierenden Medikamenten zurückgedrängt werden, dennoch ereignet sie sich nach 4 % aller abdomineller Eingriffe (16).

Mit dem zusätzlichen Einsatz der Anticoagulantientherapie konnten diese Ergebnisse noch einmal verbessert werden, doch tauchte nun das Problem der Blutungen infolge von Überdosierung dieser Medikamente auf. Die Häufigkeit von kleinen und großen Blutungen ist selbst in Kliniken mit Erfahrung auf diesem Gebiet noch immerhin über 1 %

(16). Aus diesem Grunde gehen die Meinungen über die Vertretbarkeit einer generellen postoperativen Anticoagulantientherapie weit auseinander (16).

So muß der Arzt immer zwischen zwei Abgründen auf dem schmalen Grat zwischen Thrombose und lebensbedrohlicher Blutung seinen Weg finden.

Die Frühdiagnose einer Thrombose ist auf blutenzymatischem Wege noch nicht möglich. Es würde daher eine große Hilfe bedeuten, wenn ein Indikator der sogenannten Hypercoagulabilität zur Verfügung stünde, welcher eine gezieltere Anwendung der gefährlichen Anticoagulantientherapie ermöglichen würde.

Ätiologie und Pathogenese

Bei der Entstehung einer Thrombose sind nach Virchow drei Faktoren ganz entscheidend beteiligt:

1. Veränderung der Blutströmungsgeschwindigkeit
2. Veränderung der Blutzusammensetzung
3. Veränderung der Gefäßwand

zu 1. Stase des Blutes:

durch postoperative Bettruhe verlieren die Venen ihren physiologischen Tonus, die Muskelpumpe fördert den Blutrückstrom nicht mehr, durch das Liegen werden die Wadenvenen komprimiert.

75 % der Thrombosen treten im linken Bein auf. Wahrscheinlich ist bei Graviden durch die anatomischen Beziehungen der linken Beckenvene sowohl zur linken Beckenarterie, als auch zum vergrößerten Uterus der Blutrückfluß links besonders behindert (35).

Die Stase begünstigt eine Entmischung des Blutes, die unter normalen Bedingungen mehr in der Mitte der Strombahn schwimmenden Thrombozyten kommen leichter mit der Gefäßwand in Berührung. Dabei zerfallen sie und setzen Thrombokinasen und Serotonin frei. Thrombokinasen bewirken die Aktivierung des Thrombins, Serotonin eine Verengung der Strombahn, unter Umständen sogar bis zu 80 %. Alles das sind Faktoren, die eine Thrombusentstehung begünstigen. Außerdem bewirkt die Stase eine immer gründlichere Ausschöpfung des Blutsauerstoffes. Das kann so-

weit gehen, daß die Gefäßintima, die vom Lumen her versorgt wird, in einen hypoxischen Zustand gerät und Schaden leidet.

zu 2. Veränderung der Blutzusammensetzung:

in der Schwangerschaft finden wir einen erhöhten Spiegel an Gerinnungsfaktoren, besonders an Fibrinogen, an Prothrombin, einschließlich dessen Acceleratoren und an thromboplastischen Faktoren.

Bei der Plazentalösung und ganz besonders während einer mit Plazentatraumen verlaufenden Nachgeburtsperiode wird thromboplastinhaltiges Material aus der Plazenta und Dezidua frei.

Bei Operationen werden große Mengen an Gewebsthromboplastin frei und in die Blutbahn eingeschwemmt (28, 35). Gleichzeitig werden auch größere Mengen an Heparin aus den traumatisierten Thrombozyten frei, welches verhindert, daß die Hypercoagulabilität sofort nach der Operation einsetzt.

Übersteigt die Produktion von aktivierenden Gerinnungsfaktoren die fibrinolytische Kapazität, oder ist diese von vorneherein abgeschwächt, steigt die Konzentration an thrombinvermittelten Bausteinen der Thromben im Blut an. Das durch Thromboplastin aktivierte Thrombin bewirkt am Fibrinogen eine Abspaltung der Fibrinopeptide A und B. Es entsteht das Fibrin-Monomer.

Nun kommt es zu End-zu-End- oder Seit-zu-Seit-Anlageung unter diesen Fibrinmonomeren.

Unter Einwirkung von Faktor XIII entsteht dann erst der unlösliche, stabilisierte Fibrinthrombus.

zu 3. Gefäßinnenwandveränderungen:

diese Veränderungen spielen nach Operationen, außer des oben genannten Zustandes der hypoxischen Schädigung, eine untergeordnete und sekundäre Rolle. Nach schwierigen Entbindungen wäre allerdings eine mechanische Schädigung der Beckengefäße durchaus denkbar.

Hypercoagulabilität

Unter Hypercoagulabilität versteht man eine erhöhte Gerinnungsbereitschaft des Blutes, welche zur Thrombenbildung führen kann. Man muß allerdings beachten, daß eine erhöhte Konzentration der Gerinnungsfaktoren allein nicht für den Begriff "Hypercoagulabilität" ausreicht. Vielmehr ist für die Diagnose der Hypercoagulabilität der Nachweis eines erhöhten Umsatzes an Gerinnungsfaktoren notwendig, d.h., daß beispielsweise der Effekt des aktivierten Thrombins auf Fibrinogen nachgewiesen werden muß. Diese Umsatzprodukte des Fibrinogens sind im Plasma als lösliche Fibrinogen-Monomer-Komplexe nachweisbar.

Ausgehend von dieser Problematik stellten wir uns die Frage:

Geht die Hypercoagulabilität im frühen Wochenbett mit einem vermehrten Auftreten von löslichen Fibrin-Mono-

mer-Komplexen (LFMK) einher?

Kann über den Gehalt an LFMK eine Aussage über den
Grad der Hypercoagulabilität getroffen werden?

Material und Methoden

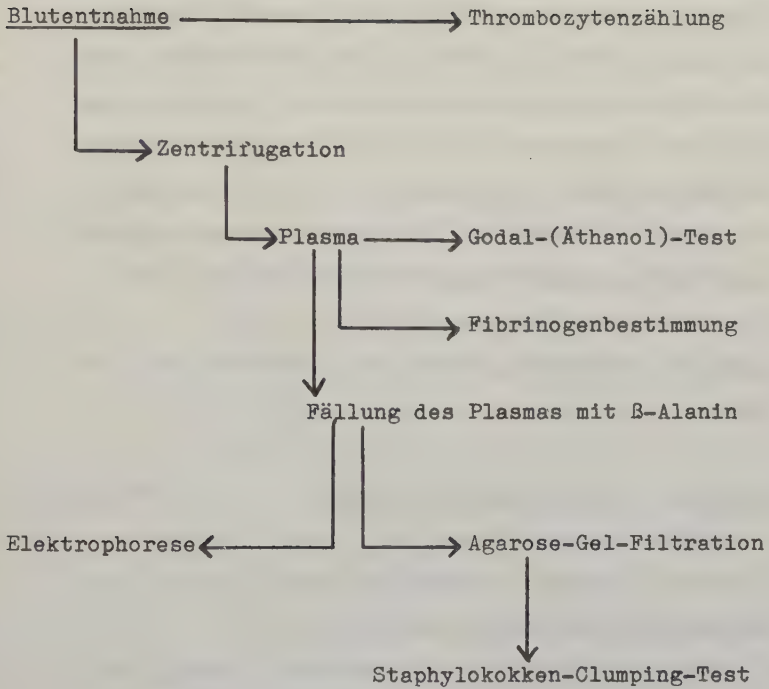
12 gesunde Erst- und Mehrgebärende, 23 - 39 Jahre alt, wurden untersucht. Schwangerschaftsverlauf, Geburt und Wochenbett waren in allen Fällen ohne besondere Vorkommnisse. Alle Neugeborenen hatten einen Apgarwert von 8 - 10 in der ersten Minute.

Blut wurde innerhalb der ersten Stunden (maximal bis 12 Stunden) nach der Niederkunft und 2, 4 und 6 Tage nach der Entbindung, sowie nach 3 Monaten abgenommen. Als Kontrollgruppe dienten 10 nicht schwangere Nulliparae im Alter von 16 - 19 Jahren, welche keine medikamentösen Antikonzeptionsmittel einnahmen.

Blutabnahme

Eine kurz gestaute Kubitalvene wurde mit einer Einmalkanüle (0.80 x 32 mm) punktiert. Die ersten Milliliter des abgenommenen Blutes wurden verworfen. In einer 10 ml Einmalspritze wurde 1 ml Zitrat-Trasytol-Gemisch, pH 7.5 vorgelegt: 0.129 m tri-Na-Zitrat, 0.06 m TES (= Tris-(hydroxymethyl)-methyl - 2 - amino - äthan - sulfonsäure), 100 000 KIE Trasytol (Bayer, Leverkusen) pro 100 ml. Es wurden 9 ml Blut unter ständigem Mischen entnommen. Das Blut wurde unverzüglich verarbeitet.

Arbeitsgang



Thrombozytenzählung (nach 7)

Mit einer Erythrozytenpipette wurde bis zur Marke 0.5 Zitratblut und dann 2 %iges Novocain (zur Hämolyse) bis zur Marke 1.01 aufgezogen. Der Inhalt wurde sorgfältig durchmischt. 20 Minuten mußte das Novocain wirken. Nachdem die ersten Tropfen verworfen wurden, beschickte man mit dem Inhalt der Pipette beide Hälften einer Neubauer-Zählkammer. Diese wurde 10 Minuten in einer feuchten Kammer inkubiert. Unter dem Phasenkontrastmikroskop wurden zwei große Quadrate ausgezählt und die erhaltene Zahl mit 1111 multipliziert.

Das Ergebnis entspricht der Anzahl der Thrombozyten pro mm^3 Blut.

Herstellung von plättchenarmem Plasma

Das Zitratblut wurde mit einer Kühlzentrifuge bei 4°C 20 Minuten lang mit 1200 g zentrifugiert.

Der Überstand wurde vorsichtig und ohne Berührung des Bodenstandes abgehebert. Der Rest wurde verworfen.

Äthanoltest (nach Godal und Abildgaard (9), Modifikation beschrieben in 27)

a) Prinzip: durch Zugabe von Äthanol werden lösliche Fibrinmonomerkomplexe in ihrem Löslichkeitsverhalten beeinträchtigt. Sie präzipitieren,

falls sie in genügend hoher Konzentration vorhanden sind, unter Ausbildung von Fäden oder gallertartigen Gerinnseln.

b) Ausführung: zwei Proben mit je 0.5 ml plättchenarmen Plasmas werden mit 0.15 ml oder 0.075 ml Äthanol-TES-Pufferlösung, pH 7.8 inkubiert und nach 10 Minuten gegen einen dunklen, nicht reflektierenden Hintergrund beurteilt. Es wird dann geprüft, ob sich mittels eines Glashäkchens in dem Ansatz Fäden ziehen lassen. Durch Neigen des Reagenzgläschens kann ersichtlich gemacht werden, ob sich ein Gerinnsel gebildet hat. Alle Proben wurden vom gleichen Untersucher beurteilt.

c) Bewertung:

- Ø ≙ klare Lösung oder geringe Trübung
ohne Niederschlag = negativ
- + ≙ einzelne zarte, mit dem Glashäkchen
ziehbare Fädchen u/o starke Trübung
mit geringem Niederschlag = frag-
lich positiv
- ++ ≙ deutliches Ausbilden von Fäden =
positiv
- +++ ≙ homogenes Gel oder dichtes Knäuel
von Einzelfäden = positiv

Fibrinogenbestimmung (nach 2)

Zu 0.5 ml Plasma wurden 2.5 ml Phosphatpuffer (0.01m, 0.15 m an NaCl, pH 6.35) und 0.15 ml Thrombinlösung (4.5 NIH Test-Thrombin, ORHT, Behringwerke, Marburg) gegeben und mit einem elektrischen Schüttler gründlich durchmischt. Nach zwei Stunden wurde das sich gebildete Gerinnsel mit einem Glashäkchen entnommen und auf einem Nylongewebe ausgedrückt und dreimal in 0.15 molarer NaCl-Lösung gewaschen. Das Gerinnsel wurde daraufhin in ein verschraubbares Glasröhrchen in ein Gemisch aus 10 ml 40 %iger Harnstofflösung (0.2 n an NaOH) und 1 ml 0.3 m NaCl-Lösung gebracht und kräftig geschüttelt. Nach zwei Stunden wird das aufgelöste Fibrin mit einem Spektralphotometer (Hitachi 181-UV) bei den Wellenlängen 280 und 325 nm gemessen. Als Blindwert dient die oben beschriebene Harnstoff-NaCl-Lösung.

Nach der Formel:

$$\text{mg Fibrinogen/ml} = E_{280-325} \times 6.927$$

läßt sich die Fibrinogenkonzentration des Plasmas in mg/ml bestimmen. Der Faktor 6.927 errechnet sich aus dem Extinktionskoeffizienten für Fibrinogen in Alkali von 15.87 ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) nach (19).

Die Fibrinogenwerte wurden noch um die Antikoagulanzenverdünnung korrigiert, wobei nach folgender Formel der Hämatokrit mit berücksichtigt wurde:

$$\text{mg\% Fibrinogen (korr.)} = \text{mg\% Fibrinogen} \times \frac{100 - \text{HK}}{(100 - \text{HK}) - 10},$$

wobei HK für nicht-korrigierten Hämatokrit steht (17).

Von allen Plasmen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Nachtrag: bei 89 Doppelbestimmungen wurde für die "Präzision in der Serie" ein Variationskoeffizient von 2.8 % ermittelt.

β -Alanin-Fällung (nach Straughn und Wagner (33), modifiziert bei Graeff und v. Hugo, (11)).

- a) Prinzip: zur Ausführung der Gel-Filtration muß das Fibrinogen von störenden Plasmaproteinen gereinigt werden. Mit Hilfe des β -Alanins läßt sich das Löslichkeitsverhalten von Fibrinogen in einer Weise beeinträchtigen, daß es bei entsprechenden β -Alaninkonzentrationen ausfällt.
- b) Vorgang: auf einem Magnetrührer wird ein etwas größerer Meßzylinder in ein Eisbad gestellt. In diesen werden 2.5 ml Plasma gegeben. Unter langsamem Rühren wird 0.557 g β -Alanin (Serva Heidelberg, Nr. 11 490) in kleinsten Portionen zugegeben. Dieser Vorgang soll sich über die Zeitdauer einer Stunde erstrecken. Die Endkonzentration beträgt 2.5 m/l. Daraufhin wird zentrifugiert (2 000 g,

20 Minuten bei 4° C), der Überstand wird verworfen, da er weniger als 10 % des Fibrinogens und des fibrinogenverwandten Materials enthält (11). Der Niederschlag wird in 1 ml TES - Trasylol - Zitrat - Puffer, pH 7,5 aufgelöst. TES - Trasylol - Zitrat - Puffer, pH 7.5: 0.06 m TES, 0.081 m NaCl, 0.0129 m tri-Na-Zitrat, 100 000 KIE Trasylol / 1 000 ml, pH 7.5.

Die Proteinkonzentration wird photometrisch bestimmt. 0.1 ml wird für die Elektrophorese aufbewahrt. Es wird darauf geachtet, daß nur etwa 6 mg auf die Säule aufgebracht werden, um eine gute Vergleichbarkeit der resultierenden Diagramme zu erreichen.

Polyacrylamid(PAA)-Gelelektrophorese

Die elektrophoretische Auftrennung wurde nach β -Alaninfällung durchgeführt mit einer wassergekühlten Flachgel-Apparatur (Desaga, Heidelberg), nach der Methode von Weber und Osborn in (29).

5 %iges PAA-Trenngel, pH 8.9, Länge 7 ± 0.25 cm, Tiefe 0.3 cm, Spannung 500 V, Laufzeit 75 min, Sammelgel pH 6.7, Länge 3 ± 0.25 cm, Spannung 200 V, Laufzeit 45 min, Glycin-Elektrodenpuffer pH 8.3.

Die Wanderzone wurde mit 0.1 %iger Bromphenolblaulösung markiert. Die elektrophoretische Beweglichkeit des Fi-

brinogens und dessen Derivate wurde nach folgender Formel bestimmt:

$$u = l_1 \times l_2 / V \times t \quad (\text{cm}^2 / V \times \text{sec})$$

l_1 = Länge des Trenngels

l_2 = Wanderlänge in cm

t = Zeit in sec

V = Spannung während der Trennzeit

Die Apparatur ermöglicht 5 Parallelläufe. Angefärbt wurde das Fibrinogen und seine Verwandten mit einem halbstündigen Bad in 1 %igem Amidoschwarz, entfärbt wurde wiederum elektrophoretisch.

Agarose-Gel-Filtration (= Säulenchromatographie)

a) Prinzip: im Agarosegel werden Moleküle verschiedener Größe verschieden schnell ausgewaschen. Moleküle mit einem höheren Molekulargewicht erscheinen früher im Eluat als Moleküle, die aufgrund ihrer Größe von dem entsprechenden Agarosegel besonders lange beim Durchfließen behindert werden.

b) Ausführung: Agarosegel-Filtration wurde mit zwei Säulen (Quickfit, Wiesbaden, Nr. 108 001/140) von 1.5 cm Durchmesser und 80 cm Länge durchgeführt. Als Gel wurde 4 %ige Agarose (Agarose-Biogel A 15, 100 - 200 mesh,

Bio-Rad Labor, München) verwendet. Diese schmalen Säulen ermöglichten es uns, einen Trennvorgang durchzuführen, selbst wenn nur 4 - 6 ml Plasma zur Verfügung standen, ohne daß die Trennqualität darunter gelitten hätte. Eluiert wurde mit peristaltischen Pumpen mit Tris-Cl-Zitratpuffer, pH 7.6. Die Flußrate betrug 13 ml pro Stunde ($\pm 10\%$). Einzelraten von 1.7 ml wurden automatisch gesammelt.

Tris-Cl-Zitrat-Puffer, pH 7.6: 0.05 m Tris, 0.116 m NaCl, 0.0129 m tri-Na-Zitrat, 0.2 m ϵ -Aminokapronsäure (EACA), 0.025 % Na-Azid, mit HCl auf pH 7.6 eingestellt.

Die Elutionen wurden photometrisch bei einer Wellenlänge von 280 und 325 nm ausgemessen. Die Differenzwerte (280-325nm) dienten zur Erstellung der Diagramme.

Auch hier wurden Doppelläufe durchgeführt, indem die Fällung eines Plasmas gleichzeitig auf beide Säulen aufgetragen und getrennt wurde.

Das Ausschluß-Volumen wurde unter Verwendung von Dextran-Blau bestimmt. Die zu erwartende Elutionsposition des Fibrinogengipfels wurde mit menschlichem Fibrinogen festgelegt (FFBH, Deutsche Kabi GmbH, München).

Nachtrag: der Variationskoeffizient für die "Präzision in der Serie" bei 52 Doppelläufen betrug 8.7 %.

- c) Auswertung: lösliche Fibrinmonomerkomplexe mit einem höheren Molekulargewicht als das des Fibrinogens werden von der Säule früher ausgewaschen als das Fibrinogen selbst. Sie erscheinen dann als "Vorschulter" vor dem Fibrinogengipfel (siehe Abbildungen 1 und 2).
- Die Abbildungen zeigen das Auswerteverfahren bei verschiedenen LFMK-Konzentrationen. In früheren Studien (12, 13, 21) wurde gezeigt, daß die Gegenwart von LFMK durch das Erscheinen einer Schulter vor dem Fibrinogengipfel ersichtlich ist. Auch konnte gezeigt werden, daß alles Material zwischen Ausschlußvolumen und dem Fibrinogengipfel aus FR-antigenem Material besteht und daß es eine elektrophoretische Beweglichkeit von $0.28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ im Polyacrylamidgel aufweist. Aufgrund dieses Wanderungsverhaltens handelt es sich wahrscheinlich um ein Dimer des Fibrinogens (Fibrinogen-Fibrinmonomer-Komplex). Es konnten aber auch noch Banden mit höherem Mole-

kulargewicht (Oligomere) beobachtet werden.
(12).

Diese Vorschulter, in Abb. 1 und 2 punktiert dargestellt und als A bezeichnet, wurde planimetrisch ausgewertet und mit der Fläche des Fibrinogengipfels (B/2 x 2) in Beziehung gesetzt. Das Planimetrieren wurde durch Ausschneiden der entsprechenden Flächen und Auswiegen auf der Analysenwaage erreicht.

Der prozentuale Anteil an LFMK vom Gesamtfibrinogen errechnet sich nach der Formel:

$$\% \text{ LFMK} = \frac{A \times 100}{A + B} .$$

A und B werden dabei in mg in die Formel eingesetzt (17).

Der absolute Gehalt an LFMK in mg pro 100 ml Plasma wurde mit folgender Formel errechnet:

$$\text{LFMK(mg/100ml)} = \frac{\text{LFMK \%} \times \text{Fibrinogen(mg/100ml)}}{100}$$

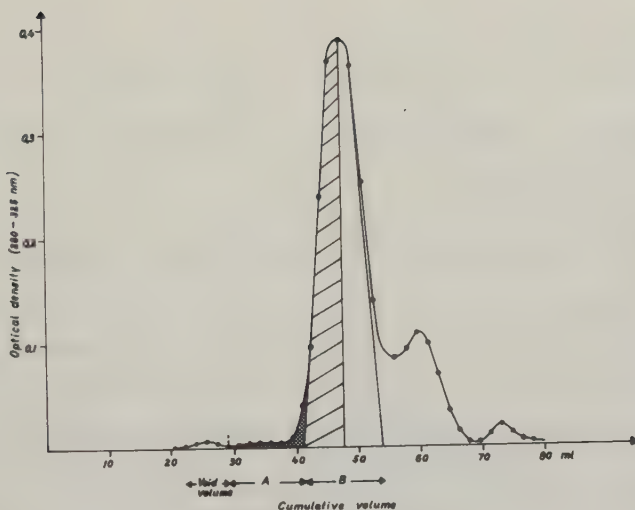


Abb. 1

Elutionskurve nach Agarose-Gel-Filtration (Biogel A-15 m) β -Alanin gefällter Plasmaproben. Optische Dichte (280 - 325) —●—●—●—●—. Die punktierte Fläche unter dem Kurvenabschnitt zwischen dem Ausschlußvolumen (Void-volume) und dem aufsteigenden Schenkel des Fibrinogengipfels (A) wird in Beziehung zum Gesamtfibrinogen gesetzt. Das Gesamtfibrinogen besteht aus der Fläche über B + der Fläche über A (Vorschulter). Der prozentuale Anteil der LFMK errechnet sich nach der Formel:

$$\% \text{ LFMK} = \frac{A \times 100}{A + B}$$

Der Gehalt an LFMK in der Abb. 1 beträgt 2.8%.

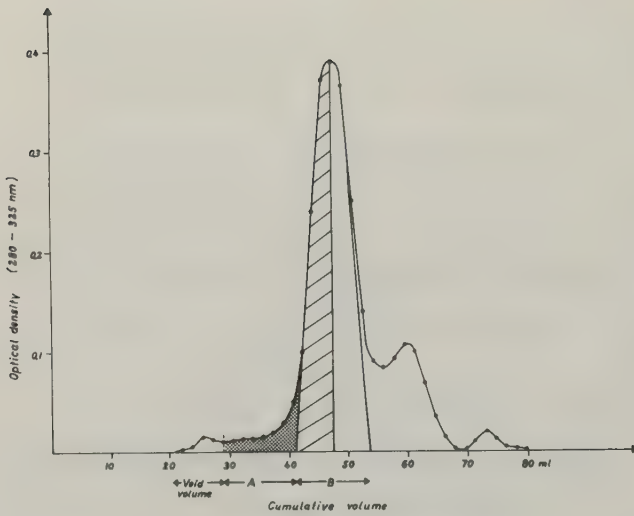


Abb. 2

Elutionskurve mit einer LFMK-Konzentration von 7.7 %.
Im Vergleich mit der Abb. 1 ist bei dieser Abbildung
deutlich die vergrößerte Vorschulter ersichtlich.

Staphylokokken-Clumping-Test

Dieser Test beruht auf der Beobachtung, daß Fibrinogen und seine Abbauprodukte in der Lage sind, eine bestimmte Art von Staphylokokken zu agglutinieren. Der Test wird bei Hawiger und Mitarb. (18) als ein hochsensibler Test beschrieben, der Fibrinogen, die Fibrinogenabbauprodukte (FDP) und die LFMK bis zu einer Verdünnung von $0.5 \mu\text{g}$ Fibrinogen-Äquivalent pro ml nachzuweisen gestattet. Das agglutinierende Substrat scheint an der Zellmembran der Bakterienzelle gebunden zu sein. Wir benutzten ein Standardpräparat aus Staphylokokken (Boeringer, Mannheim), das den Clumping-Faktor enthält. Der Test wurde angewandt um die Gegenwart von Fibrinogen und dessen Derivate in gewissen Elutionsfraktionen, besonders den Fraktionen der Vorschulter nachzuweisen.

Statistische Auswertung

Der Wilcoxon-Test für gepaarte Beobachtungen und der t-Test nach Student für gepaarte Beobachtungen wurde angewandt. Da die Anwendung des t-Testes normalverteilte Stichproben voraussetzt, wurden alle Werte mittels Probittransformation kontrolliert. Dieses Verfahren bestätigte die Normalverteilung der Werte. In einem Fall wurde auch eine einfache Varianzanalyse durchgeführt.

Die Nullhypothese lautete:

Es besteht kein Unterschied zwischen den verschiedenen untersuchten Gruppen bezüglich der LFMK %, LFMK mg/100 ml, Fibrinogenkonzentration, Godaltest.

Die Alternativhypothese lautet:

Es besteht ein Unterschied hinsichtlich der oben angeführten Beobachtungsergebnisse.

Dieses Vorgehen verdeutlicht die Chancen eines zufälligen Zustandekommens der Testergebnisse.

Ergebnisse auf einem Signifikanzniveau von 95 % ($p < 0.05$) und mehr wurden als signifikant bezeichnet.

Die Berechnungen wurden nach in (5) angegebenen Formeln mit einem Diehl "Sigmatron" Tischrechner durchgeführt.

Ergebnisse

Äthanoltest: Es scheint gerechtfertigt, die subjektiv ermittelten Abstufungen der Testergebnisse ($\emptyset$, +, ++, +++) als lineare Abhängigkeit mit gleichgroßen Intervallen anzusehen (34).

So wurden in Abbildung 3 diese Bewertungsstufen in einer Art aufgetragen, als verhielte sich: $\emptyset \hat{=} 0$, $+$ $\hat{=} 1$, $++ \hat{=} 2$, $+++ \hat{=} 3$. Es läßt sich recht gut die Entwicklung des Äthanoltestes im frühen Wochenbett und nach 3 Monaten ablesen. Für die einzelnen Tage im Wochenbett konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Vergleicht man allerdings den Wochenbettmittelwert mit dem Wert von 3 Monaten nach der Entbindung, so ergibt sich im t-Test für gepaarte Beobachtungen ein Signifikanzniveau von $p < 0.01$.

Dasselbe sagt der Vergleich des letzten Wochenbettages mit dem Spätwert aus.

Im Vergleich des 3-Monatswertes der Frauen mit der Kontrollgruppe der Nulliparae kann, obwohl diese noch ein wenig niedrigere Werte haben, kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

(Fortsetzung siehe Seite 25)

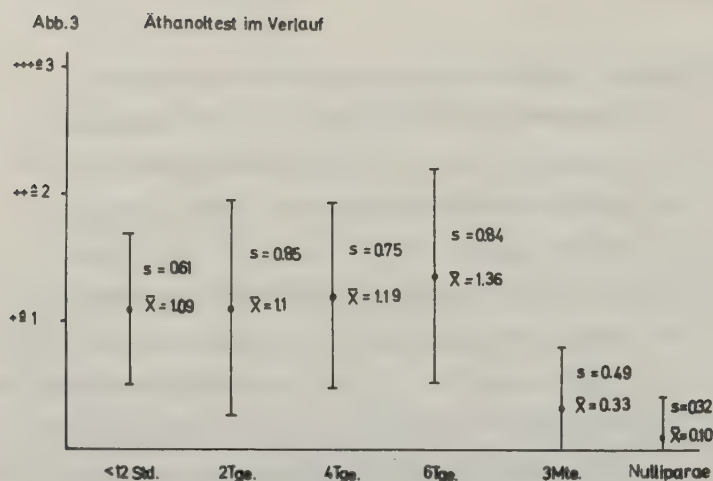


Abb. 3

Äthanoltest (Verdünnung 10:3) im Laufe des Wochenbettes und 3 Monate nach der Entbindung. Der Mittelwert ist durch $\bar{X}$ ausgedrückt, die Standardabweichung durch s. Ganz rechts ist der Äthanoltest der Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae im Alter von 16 - 19 Jahren aufgetragen, welche keine medikamentösen Antikonzeptionsmittel einnehmen. Die einzelnen Stufen der Testergebnisse (Ø, +, ++, +++) wurden linear angeordnet. Man erkennt das im Wesentlichen gleichbleibende Niveau der Testergebnisse während des Wochenbettes und den darauffolgenden, starken Abfall der Werte 3 Monate nachher. Diese Werte lassen sich statistisch von den Werten der Kontrollgruppe nicht unterscheiden.

Wenn man annimmt, daß der Äthanoltest eine Aussage über die Hypercoagulabilität bringt, dann sehen wir an dieser Darstellung, daß er während des frühen Wochenbettes deutlich erhöht ist gegenüber den Werten 3 Monate nach der Entbindung, und auch im Vergleich mit den Werten der Kontrollgruppe.

Der hohe Variationskoeffizient hängt mit der geringen Anzahl der Unterteilungsstufen des Testes zusammen. Gelänge es, die Ergebnisse des Äthanoltestes noch feiner abgestuft zu bestimmen, so könnte manches Ergebnis, das jetzt z.B. unter ++ $\hat{=}$ 2 läuft, einen exakteren Platz z.B. 2.4 im Diagramm einnehmen und so auch mehr zur Klarheit der Aussage beitragen.

Von den 10 Nulliparae der Kontrollgruppe hatten 9 einen negativen Äthanoltest in beiden Verdünnungen und nur eine hatte einen fraglich positiven Äthanoltest (+) in der 10:3-Verdünnung, also in dem Ansatz mit der größeren Menge an Äthanolzugabe. Bei der kleineren Äthanolkonzentration 10:1.5 waren alle Werte der Kontrollgruppe negativ.

Bei den 12 Frauen, die 3 Monate nach der
(Fortsetzung siehe Seite 27)

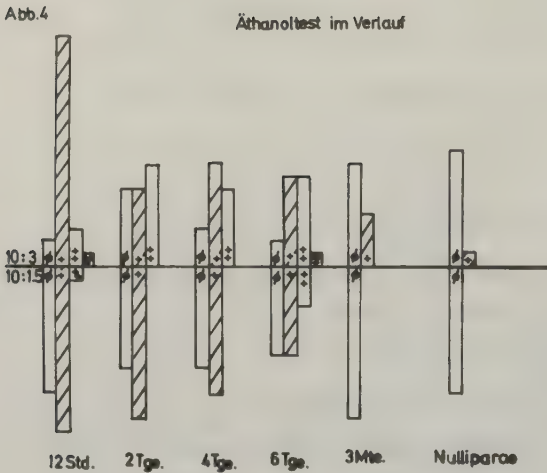


Abb.4

Äthanoltest im Verlaufe des Wochenbettes und 3 Monate nach der Entbindung. Die Säulengruppe ganz rechts zeigt den Äthanoltest der Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae. Oberhalb des durchgehenden waagerechten Striches erscheinen alle Äthanolteste mit höherer Äthanolkonzentration (10:3). Darunter sind die Äthanolteste mit schwächerer Äthanolkonzentration (10:1.5) aufgetragen. Schraffierte Säulen zeigen das fraglich positive Ergebnis (+). Stark positive Werte (+++) erscheinen insgesamt nur 2 mal und nur bei starker Konzentration (10:3). Beim Vergleich der beiden Testansätze erkennt man einen Trend zu fraglich positiven und negativen Ergebnissen bei der schwächeren Äthanolkonzentration.

Entbindung untersucht wurden, waren beim 10:3-Ansatz 8 negativ und 4 fraglich positiv.

Beim 10:1.5-Ansatz fielen auch hier alle Werte negativ aus.

Im Wochenbett nun trat das stark positive Äthanolergbnis (+++) bei allen (156 $\hat{=}$ $\hat{=}$ 100 %) Untersuchungen nur 2 mal insgesamt auf, und das nur in der Äthanolkonzentration 10:3.

Ein positiver Äthanoltest (++) trat 28 mal in Erscheinung, 24 mal in der 10:3-Verdünnung und 4 mal in der 10:1.5-Konzentration.

Ein fraglich positives Ergebnis (+) bekamen wir 81 mal ($\hat{=}$ 50 %) zu sehen. Davon trat es in der 10:3-Konzentration 39 mal auf, in der 10:1.5-Konzentration 42 mal.

Ein negativer Äthanoltest zeigte sich 45 mal, 13 mal bei der 10:3-Verdünnung, 32 mal bei der 10:1.5-Verdünnung.

Dieses Ergebnis veranschaulicht deutlich das unterschiedliche Ausfallen des Äthanoltestes im frühen und im späten Wochenbett. Bei den Wochenbettwerten überwiegen in jedem Fall die einfach positiven Werte. Im Spätwochenbett und bei der Kon-

trollgruppe der Nulliparae überwiegen die negativen Werte des Äthanoltestes.

Fibrinogen: Die Fibrinogenkonzentration im frühen Wochenbett war deutlich erhöht, bei Mittelwerten von 369 - 453 mg%. In manchen Fällen reichten die Werte weit über 600 mg% hinaus. Diese schon an anderer Stelle beschriebene Zunahme an Gerinnungsfaktoren (17) ist in der Schwangerschaft physiologisch, ebenso im frühen Wochenbett. Innerhalb der ersten 6 Tage nach der Entbindung konnte keine statistisch signifikante Veränderung festgestellt werden. Wenn man nun aber den Wert von 3 Monaten nach der Entbindung mit dem Wochenbettmittelwert vergleicht, sieht man schon im Kurvenverlauf den erheblichen Abfall in der Fibrinogenkonzentration. Der t-Test für gepaarte Beobachtungen ergab dann auch einen signifikanten Unterschied. Die Nullhypothese (= die Wertegruppen unterscheiden sich nicht) konnte verworfen werden. Die Alternativhypothese (= die beiden Wertegruppen unterscheiden sich) mußte angenommen werden und zwar auf einem Signifikanzniveau von $p < 0.005$. Beim (Fortsetzung siehe Seite 30)

Abb.5

Fibrinogen mg pro 100ml

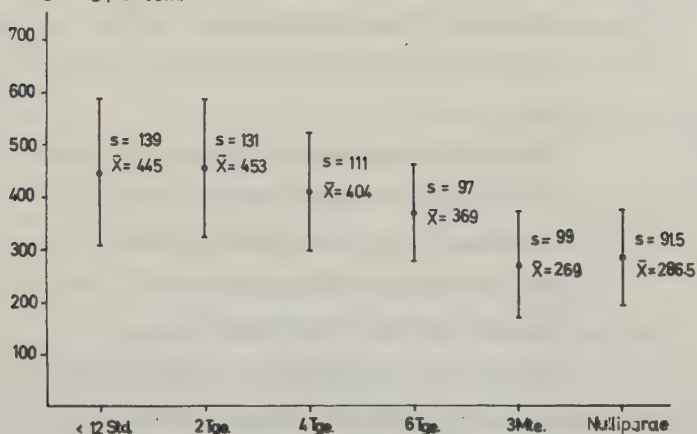


Abb. 5

Fibrinogengehalt in mg pro 100 ml Plasma im frühen Wochenbett und 3 Monate nach der Entbindung. Ganz rechts ist der Fibrinogengehalt der Kontrollgruppe der 16 - 19-jährigen nicht schwangeren Nulliparae aufgetragen. Die Abbildung 5 verdeutlicht den kontinuierlichen Abfall des erhöhten Fibrinogengehaltes ab 2. Wochenbettages. Die Werte nach 3 Monaten haben die Werte der Kontrollgruppe erreicht.

Vergleich der Werte vom 1. Tag nach der Niederkunft mit den 3-Monatswerten fällt auch der große Unterschied auf. Hier kann die Alternativhypothese mit einem Signifikanzniveau von $p < 0.001$ angenommen werden.

Man sieht, daß die Fibrinogenkonzentration, die in der Schwangerschaft fast verdoppelt war, nach drei Monaten wieder normale Werte angenommen hat. Zum Vergleich steht die Kontrollgruppe der 10 Nulliparae im Alter von 16 - 19 Jahren, die keine Antikonzektionsmittel einnehmen. Diese Gruppe hat einen Fibrinogengehalt von $286 \pm 91 \text{ mg\%}$ ($\bar{X} \pm s$), während die Frauen einen Spätwert an Fibrinogen von $269 \pm 99 \text{ mg\%}$ haben.

Diese leichte Erhöhung reicht nicht aus, um einen statistisch zu sichernden Unterschied zu errechnen. Siehe Abb. 5.

Thrombozyten: Die Ergebnisse der Thrombozytenzählung ergab auf den ersten Blick ein recht verwirrendes Bild, doch läßt sich durchaus ein Interpretationsversuch verantworten. Am ersten Tag nach der Niederkunft waren die Thrombozyten mit $152\ 000 \pm 34\ 000$ ($\bar{X} \pm s$) sehr niedrig.

Es liegt die Vermutung nahe, daß während der Entbindung sehr viele Blutplättchen verbraucht wurden. Leider haben wir keine Werte dieser Frauen vor der Entbindung, da Schwangere gewöhnlich erst die Klinik aufsuchen, wenn die Wehen beginnen oder schon begonnen haben.

Während des frühen Wochenbettes steigen die Thrombozytenzahlen von Tag zu Tag kontinuierlich an. Am 6. Tag, welcher meist der letzte Tag des stationären Aufenthaltes ist, waren sie bis auf Werte um $243\ 000 \pm 54\ 000$ ($\bar{x} \pm s$) angestiegen. Diese Zahlen unterscheiden sich signifikant von den Werten des 1. Wochenbettages ($p < 0.01$). Ob diese Konzentrationserhöhung über den 6. Tag hinaus noch weitergeht, entzieht sich unseren Kenntnissen.

Dieser Anstieg ist als eine überschießende Produktion und Ausschüttung auf den starken Verbrauch während der Geburt zu werten.

Die Zählung 3 Monate nach der Entbindung ergab mittlere Werte von $197\ 000 \pm 32\ 000$ ($\bar{x} \pm s$), die auch recht gut mit den Zahlen der Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae von $209\ 000 \pm 23\ 000$ übereinstimmen.

Der Spätwert der Frauen unterscheidet sich vom Wert des ersten Wochenbettages signifikant ($p < 0.01$).

Die Werte des 6. Wochenbettages im Vergleich mit den Werten des Spätwochenbettes wurden einer Varianzanalyse unterzogen, da wir zu diesem Zwecke auch die Werte je-
ner 5 Frauen zusätzlich heranziehen konnten, von denen keine Spätwerte vorlagen. Auch hier konnte die Nullhypothese (= es besteht kein Unterschied zwischen den Gruppen) zurückgewiesen werden. Die Alternativhypothese kam zur Anwendung. Sie mußte auf dem 95 %-Niveau angenommen werden ($p < 0.05$).

Somit ist die Annahme statistisch untermauert, wonach mit dem Eintreten der Niederkunft auch ein Thrombozytenverbrauch einhergeht, der im peripheren Blutstrom unter den Zeichen der Konzentrationserniedrigung der Blutplättchen erkennbar ist. Darauf folgt die physiologische Überproduktion und Ausschüttung bis zum 6. Tag (vorläufiges Ende des Beobachtungszeitraumes). 3 Monate nach der Niederkunft hat sich die Thrombozytenkonzentration soweit normalisiert, daß sie im Bereich der Konzentration der Kontrollgruppe liegt. Siehe Abb.6

Abb 6

Thrombozyten

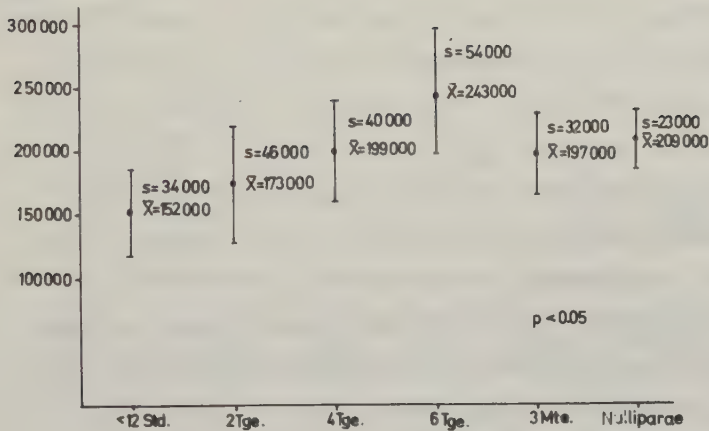


Abb. 6

Anzahl der Thrombozyten pro mm^3 im frühen Wochenbett und 3 Monate nach der Entbindung. Mittelwert $\pm$ Standardabweichung ($\bar{X} \pm s$). Ganz rechts sind die Thrombozytenkonzentrationen bei der Kontrollgruppe der 16 - 19 jährigen nicht schwangeren Nulliparae angetragen. Am Tage der Niederkunft sind die Thrombozytenwerte erniedrigt. Die Konzentrationen steigen im Laufe des frühen Wochenbettes kontinuierlich an. Der 6. Tag zeigt das Ergebnis einer überschießenden Nachbildung. Der Wert 3 Monate nach der Entbindung liegt im Bereich der Ergebnisse der Kontrollgruppe. Der Wert des 6. Tages im frühen Wochenbett unterscheidet sich vom 3-Monatswert signifikant ($p < 0.05$).

Lösliche Fibrinmonomerkomplexe (LFMK):

Während der Zeit zwischen der Niederkunft und dem 6. Tag des frühen Wochenbettes blieben sowohl die relativen LFMK-Werte (in % vom Gesamtfibrinogen), als auch die absoluten LFMK-Werte (in mg pro 100 ml Plasma) im Wesentlichen konstant.

Die relativen Werte erhielten wir, indem wir die Vorschulter planimetrisch auswerteten und sie dann in Prozenten vom gesamten Fibrinogengipfel ausdrückten.

Die absoluten Werte resultieren aus den relativen Werten unter Einbeziehung der Fibrinogenkonzentration des Plasmas, welche mit der spektrophotometrischen Fibrinogen-Bestimmung ermittelt wurde.

Die Mittelwerte der LFMK im Wochenbett schwanken zwischen 5 und 7.5 %. Die absoluten Werte der LFMK bewegen sich zwischen 21 und 29 mg pro 100 ml Plasma. Mittelwert und Standardabweichung über alle Werte des frühen Wochenbettes sind: 6.2 ± 1.2 %; 26.6 ± 10.7 mg pro 100 ml. Im frühen Wochenbett konnte zwischen den einzelnen Tagen kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Nimmt man die Werte des späten Wochenbettes zum Vergleich, ergibt sich ein eindrucksvoller Unterschied. Der Mittelwert und die Standardabweichung sind hier: 3.3 ± 1.3 % LFMK. Statistisch wurde der Mittelwert des frühen Wochenbettes mit dem Spätwert (= Wert 3 Monate nach der Entbindung) verglichen. Ebenso wurden die Wer-

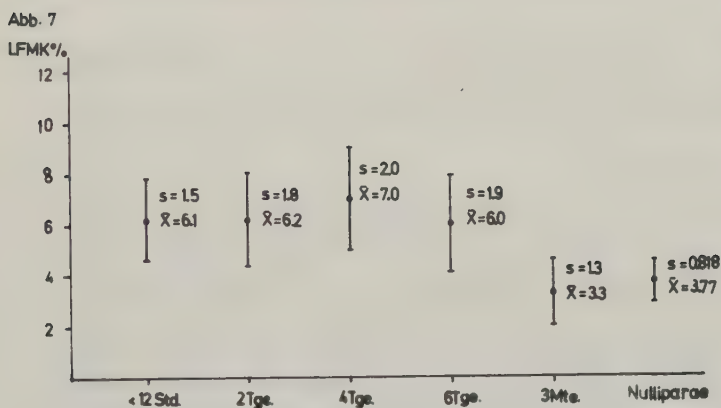


Abb.7

Lösliche Fibrinmonomerkomplexe (LFMK) in prozentualer Relation zum Gesamtfibrinogen während des frühen Wochenbettes und 3 Monate nach der Niederkunft. Ganz rechts ist der prozentuale LFMK-Anteil der Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae angetragen. Der prozentuale LFMK-Anteil im frühen Wochenbett blieb zwischen 6 und 7 % annähernd konstant. Er ist 3 Monate nach der Entbindung auf 3.3 % gefallen. Das Signifikanzniveau von $p < 0.001$ verdeutlicht diesen Abfall. Der Wert von 3 Monaten nach der Entbindung läßt sich statistisch vom Wert der Kontrollgruppe nicht mehr unterscheiden.

te der einzelnen Wochenbettstage mit dem Spätwert verglichen. In jedem Fall ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0.001$).

Dieses Signifikanzniveau verdeutlicht, daß die Chance für das zufällige Zustandekommen dieser Ergebnisse nur 1 : 1000 ist.

Die Werte der als Kontrollgruppe dienenden 10 Nulliparae liegen ebenso in diesem Bereich ($3.77 \pm 0.818 \%$). Dies spricht dafür, daß sich der Prozentsatz an LFMK bei den Frauen nach 3 Monaten normalisiert hat und nun auf gleicher Höhe liegt wie die Werte der Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae. Man kann von einer Rückkehr zu normalen Werten sprechen.

(Siehe Abbildung 7)

Bei den LFMK-Werten in mg pro 100 ml Plasma zeigten sich ganz ähnliche Werte wie bei den LFMK-Werten in %. Im frühen Wochenbett bewegen sich die Werte zwischen 27.4 und 29.1 mg pro 100 ml Plasma.

Am 6. Tag fielen sie wieder auf 21.8 ± 9.8 mg pro 100 ml. Dieser Abfall ist nicht groß genug, um eine statistische Aussage zu ermöglichen. Der Unterschied der Werte des letzten Tages des frühen Wochenbettes zu den Werten von 3 Monaten nach der Entbindung ($21.8 \pm 9.8 \longrightarrow 8.4 \pm 3.4$ mg pro 100 ml) ist so groß, daß ein Signifikanzniveau von $p < 0.001$ erreicht wird.

Das gleiche Ergebnis wird erreicht, wenn man den Mittelwert des frühen Wochenbettes oder die Werte der einzelnen Tage des frühen Wochenbettes mit den Werten von

Abb. 8

LFMK

mg pro 100 ml

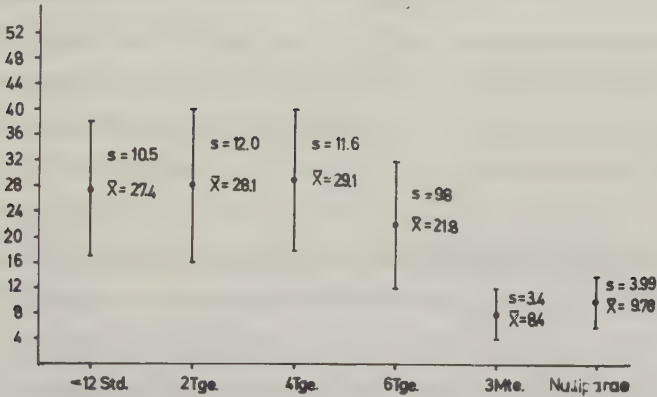


Abb. 8

Lösliche Fibrinmonomerkomplexe (LFMK) in mg pro 100 ml Plasma im frühen Wochenbett und 3 Monate nach der Entbindung. Ganz rechts sind die LFMK in mg pro 100 ml Plasma der Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae angetragen. Die Konzentration an LFMK pro 100 ml bleibt während des frühen Wochenbettes annähernd konstant. Der Wert von 3 Monate nach der Entbindung ist im Vergleich dazu signifikant erniedrigt ($p < 0.001$) und liegt auf ähnlicher Höhe wie der Wert der Kontrollgruppe.

3 Monaten nach der Entbindung vergleicht.

Die Werte haben sich nach 3 Monaten wieder soweit normalisiert, daß sie sogar geringfügig niedriger lagen, als die der Kontrollgruppe. Für die Frauen wurden folgende Werte gefunden: 8.4 ± 3.4 mg pro 100 ml Plasma. Die Kontrollgruppe der 10 nicht schwangeren Nulliparae hatten diese Werte: 9.78 ± 3.99 mg pro 100 ml Plasma. (Siehe Abbildung 8)

Gel-Elektrophorese: Die stichprobenartig angefertigten Gel-Elektrophoresen bestätigten in vollem Umfange das früher von Graeff und v. Hugo nachgewiesene Auftreten von O.28-Derivaten in der Vorschulter des Fibrinogengipfels. Leider konnten keine fraktionierten elektrophoretischen Trennungen der Säuleneluate vorgenommen werden, da die Mengen der einzelnen Fraktionen zu klein sind. Es kann aber kein Zweifel darüber bestehen, daß auch hier die O.28-Derivate des Fibrinogens, die wir in den Plasmen fanden, den Großteil der Vorschulter ausmachen (11,13).

Staphylokokken-Clumping-Test:

Mit Hilfe dieses Testes wurde stichprobenartig untersucht, ob sich im fraktionierten Eluat der Gel-Filtration FR-antigenes Material befindet. Auch hier konnten wir nachweisen, daß hinter dem Peak des Ausschlußvolumens FR-antigenes Material nachzuweisen ist. Ebenso ist es auf der gesamten Strecke der Vorschulter und des Fibrinogenpeaks bis zum Abfall der Fibrinogenkurve nachzuweisen. Auf der Strecke des nachfolgenden Albuminpeaks bleibt der Test negativ. Bezogen auf die Abbildung 1, Seite 19 würde das bedeuten, daß von der Eluatmenge 28 ml bis zur Eluatmenge 54 ml FR-antigenes Material mit dem Staphylokokken-Clumping-Test nachzuweisen wäre.

In der Tabelle 1 sind die wichtigsten Ergebnisse noch einmal zusammengefaßt.

Tabelle 1

Betrag von löslichen Fibrinmonomerkomplexen (LFMK), von Fibrinogen und von Thrombozyten im frühen Wochenbett, sowie 3 Monate nach der Entbindung (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung).

	Frühes Wochenbett				Signifikanzteste: t-Test Wilcoxon-Test Varianzanalyse a: I gegen V b: I-IV gegen V c: IV gegen V d: I gegen IV	3 Monate nach der Niederkunft V
	12 Stunden nach der Niederkunft I	2 Tage II	4 Tage III	6 Tage IV		
LFMK in % des Gesamtfibrinogen	6.1 $\pm$ 1.5	6.2 $\pm$ 1.8	7.0 $\pm$ 2.0	6.0 $\pm$ 1.9	a: p < 0.001 b: p < 0.001	3.3 $\pm$ 1.3
LFMK (mg pro 100 ml)	27.4 $\pm$ 10.5	28.1 $\pm$ 12.0	29.1 $\pm$ 11.6	21.8 $\pm$ 9.8	a: p < 0.001 b: p < 0.001	8.4 $\pm$ 3.4
Fibrinogen (mg pro 100ml)	445 $\pm$ 139	453 $\pm$ 131	404 $\pm$ 111	369 $\pm$ 97	a: p < 0.001 b: p < 0.005	269 $\pm$ 99
Thrombozyten (pro mm ³)	152 000 $\pm$ $\pm$ 34 000	173 000 $\pm$ $\pm$ 46 000	199 000 $\pm$ $\pm$ 40 000	243 000 $\pm$ $\pm$ 54 000	a: p < 0.01 c: p < 0.05 d: p < 0.01	197 000 $\pm$ $\pm$ 32 000

Diskussion

Die ermittelten Daten zeigen, daß erhöhte Spiegel an Fibrinogen und LFMK während des frühen Wochenbettes zu finden sind. Im späten Wochenbett haben sich diese Werte wieder normalisiert und liegen auf der Höhe der Werte einer Kontrollgruppe von 10 nicht schwangeren Nulliparae, die keine medikamentösen Antikonzektionsmittel einnehmen.

Weitergehende detaillierte Identifizierung der Vorschulter bleibt späteren Studien vorbehalten, da es uns wegen der geringen Menge des eluierten Materials nicht möglich war, diese Untersuchung durchzuführen. Dennoch scheint die Annahme durchaus berechtigt, aufgrund der Ähnlichkeit mit früheren Studien (12, 21), daß die Vorschulter hauptsächlich eine Komponente mit einer dimeren Struktur enthält, welche entweder als Fibrinogen-Fibrin-Monomer-Komplex oder als kovalent gebundenes Dimer vorliegt, welches eine elektrophoretische Beweglichkeit im 5 %-igen Polyacrylamid-Gel von $0.28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ ("0.28-Derivat") hat. Ein Fibrinogenderivat mit diesem Verhalten bei der Agarose-Gel-Filtration und mit der elektrophoretischen Beweglichkeit der 0.28-Derivate wurde bei in-vitro Präparationen nach Zugabe von kleinen Thrombinkonzentrationen zu Plasma nachgewiesen (21, 24). Die unleugbare Ähnlichkeit zwischen den in-vitro gefundenen Monomeren und ihre Beobachtung im Plasma

von Patientinnen legen die Vermutung nahe, daß die O.28-Derivate auch in-vivo von der Wirkung des Thrombins oder einem thrombinähnlichen Enzym auf Fibrinogen bewirkt wird.

Der hypercoagulable Zustand im Wochenbett mit seinem gehäuften Auftreten der thromboembolischen Krankheit ist also gut widergespiegelt in einer gesteigerten Thrombinaktivität, die ihrerseits wiederum einen erhöhten Wert an Fibrinmonomeren mit sich bringt.

Es wäre denkbar, daß die LFMK dieser Studie in Beziehung ständen mit den als "Cryofibrin" charakterisierten Molekülen von Sheinoff und Page (30).

Sherman (31) berichtete erst neulich von einer bedeutend kürzeren Halbwertszeit des ^{125}J -Cryoprofibrins bei Kaninchen (13 Stunden) als der Halbwertszeit des Fibrinogens. Wenn man ähnliche Werte beim Menschen annimmt, würde der unverändert erhöhte Spiegel dieser Produkte bis wenigstens zum 6. Tag des Wochenbettes anzeigen, daß über diesen Zeitraum eine erhöhte Bildung von löslichem Fibrin stattfindet. Dieser erhöhte Fibrinogenkatabolismus zeigt sich zusätzlich in dem erhöhten Fibrinogenspiegel des Plasmas. Die planimetrische Auswertung der Gelfiltrationskurven dürfte - entsprechend dem beschriebenen Vorgehen - eventuell eine zu hohe Schätzung für LFMK ergeben, wenn die Vorschulter sehr klein ist. Daher darf damit gerechnet werden, daß die 3 % LFMK-Werte der Frauen im späten Wochenbett und auch die Werte der 10 Nulli-

parae etwas zu hoch sind. In diesem Zusammenhang scheint es von Interesse zu sein, daß Hörmann und Schröder (20) schon Fibrinoligomere in einer unlöslichen Kältefraktion von normalem menschlichen Plasma demonstrieren konnten. Es ist folglich anzunehmen, daß beim Gesunden physiologischerweise LFMK in geringem Umfang vorhanden sind, als Ausdruck eines Steady-state von Gerinnung und Fibrinolyse.

Ein Variationskoeffizient über alle Werte, die doppelt bestimmt wurden von 8.7 %, scheint die Brauchbarkeit der angewandten Methode der Gel-Filtration zu bestätigen.

Die Gegenwart von LFMK im Plasma von schwangeren und entbundenen Patientinnen wurde auch mit anderen Techniken wie Cryopräzipitation(25,3), Serienverdünnungen der Protaminfällung (25) oder durch den Äthanoltest (12, 8, 27) gezeigt.

Eine direktere und quantitativ exaktere Aufarbeitung des Materials dürfte jedoch zu zwingenderen Schlussfolgerungen führen.

Die quantitative Bestimmung von LFMK im frühen Wochenbett, die hier in dieser Studie durchgeführt wurde, zeigt, daß die Hypercoagulabilität bestimmt werden kann, indem man die von der erhöhten Thrombinaktivität induzierten löslichen Fibrin-Bausteine des Thrombus mißt. Diese Methode könnte eine Hilfe für den Kliniker sein in seiner schwierigen Situation, die thromboembolische Krankheit zu diagnostizieren.

Obendrein könnte diese Bestimmung der Hypercoagulabilität von diagnostischem Wert in Fällen von intrauterinem Wachstumsrückstand (8), oder bei der Prä-Eklampsie sein (25).

Zusammen mit der qualitativen Identifikation von hochmolekularen Derivaten des Fibrinogens im Plasma (14) könnte es zu einer detaillierten Beschreibung des Grades einer disseminierten intravasalen Gerinnung in bestimmten Fällen führen. Außerdem wäre denkbar, daß diese Methode in gewissen Fällen zur Früherkennung der Gefahr eines Herzinfarkt-Rezidivs (18) oder zur rechtzeitigen und exakteren postoperativen Thromboseprophylaxe nach schweren operativen Eingriffen nützlich sein könnte.

*) Wesentliche Teile dieser Arbeit sind im American Journal of Obstetrics and Gynecology in Druck (15).

Zusammenfassung

Bei 12 Patientinnen wurden lösliche Fibrinmonomer-komplexe jeden zweiten Tag während des frühen Wochenbettes und 3 Monate nach der Entbindung bestimmt. Als Kontrollgruppe dienten 10 Nulliparae im Alter zwischen 16 und 19 Jahren.

Die Plasmen wurden mit β -Alanin gefällt und mit 4 %igem Agarose-Gel chromatographiert. Mit Hilfe dieser Trennungsmethode konnte die relative (in Prozent vom Gesamtfibrinogen) und die absolute Menge (in mg pro 100 ml Plasma) an LFMK bestimmt werden.

Während des frühen Wochenbettes veränderten sich die Werte nicht signifikant. Die Werte waren $6.3 \pm 1.2 \%$ bzw. 27.6 ± 9.1 mg/100 ml (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung).

Die Konzentration an LFMK war 3 Monate nach der Entbindung signifikant ($p < 0.001$) niedriger ($3.3 \pm 1.3 \%$, 8.4 ± 3.4 mg/100 ml). Sie lagen auf gleichem Niveau wie die Werte der Kontrollgruppe.

LFMK sind durch Thrombin induzierte Umsatzprodukte des Fibrinogens. Sie können, quantitativ bestimmt, zur Beurteilung eines Zustandes der Hypercoagulabilität herangezogen werden. In der vorliegenden Studie wurde dies am Beispiel des frühen Wochenbettes aufgezeigt.

Literatur:

- 1 Bauer, G.: Diagnosis and Management of Peripheral Venous Diseases. Amer. J. Med. 23: 713 (1957)
- 2 Blombäck, B., M. Blombäck: Purifikation of human and bovine fibrinogen. Arkiv Kemi 10:415 (1956)
- 3 Chandra, R. K., P. K. Malkani, and K. Bhasin: Serum Levels of α_2 -Macroglobulin and JgG and Cryofibrinogenemia in Pregnancy. Obstet. Gynecol. 41: 56 (1973)
- 4 Dick, W.: Die Prophylaxe der Thrombose und Embolie. Medizinische 543 (1958)
- 5 Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage (1968) Seite 9 - 197
- 6 Drill, V. A.: Oral Contraceptives and Thromboembolic Disease I. Prospective and Retrospective Studies. Jama 219 I: 583 (1972)
- 7 Feissly, R. et H. Ludin: Microscopie par contrastes de phases. Rev. Hémat. 4: 481 (1949)
- 8 Frigoletto, F. D., J. L. Tullis, D. E. Reid, and J. Hinman: Hypercoagulability in the dysmature Syndrome. Amer. J. Obstet. Gynecol. 111: 867, (1971)

- 9 Godal, H. C. and U. Abildgaard: Gelation of soluble fibrin in plasma by ethanol. Scand. J. haemat.: 3: 342 - 350 (1966)
- 10 Godal, H. C., U. Abildgaard and P. Kierulf: The ethanol test - an indicator of fibrinemia. Coagulation, 3: 343 - 345 (1971)
- 11 Graeff, H. and R. von Hugo: Identification of Fibrinogen Derivatives in Plasma Samples. Thromb. Diath. haemorrh., 27: 610 - 618 (1972)
- 12 Graeff, H., R. von Hugo, and R. Hafter: In Vivo Formation of Soluble Fibrin Monomer Complexes in Human Plasma. Thrombosis Research 3: 465 (1973)
- 13 Graeff, H., R. von Hugo, W. Kuhn, H. Scholz, A. Ernst, and R. Gastrop: Fibrinogen Derivates with a higher Molecular Weight than that of the Parent Molecule in Cord Vein Plasma of Newborns. I. Identification in Single Plasma Samples. Klin. Wschr. 51, 695 - 698 (1973)
- 14 Graeff, H., R. von Hugo: Fibrinogen Derivates in Case of Abruptio Placentae. Amer. J. Obstet. Gynecol., 120: 335 (1974)
- 15 Graeff, H., A. Wiedemann, R. von Hugo, R. Hafter: Amount and Distribution Pattern of Soluble Fibrin Monomer Complexes during the Early Puerperium. In Druck.

- 16 Groß, R.: Die thromboembolische Erkrankung. In Th. Naegeli: Die thromboembolische Erkrankung, Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 513 ff (1960)
- 17 Hafter, R., T. Schneebauer, K.Tafel, E. Ernst, H. Graeff: Bestimmung von löslichen Fibrinmonomerkomplexen zur Erfassung der Hyperkoagulabilität in der Schwangerschaft und unter der Geburt. Geb.- und Frauenheilkunde 35: 518 (1975)
- 18 Hawiger, J., S. Niewiarowski, V.Gurewich and D.P, Thomas: Measurement of fibrinogen and fibrin degradation products in serum by staphylococcal clumping test. Lab. Clin. Med. 75: 93 (1970)
- 19 Hörmann, H. und R. Gollwitzer: Analytische Untersuchungen über Rinderfibrinogen und -fibrin. Z. Physiol. Chem. 31: 188 (1974)
- 20 Hörmann, H. and Ströder, W.: Investigation on the cold-insoluble fraction of fibrinogen. In Abstract volume, IV. Inter. Congr. on Thrombosis and Haemostasis, Vienna, June 19. - 22. 1973, S. 386
- 21 von Hugo, R., and H. Graeff: Fibrin-I Degradation Products with a Molecular Weight Higher than that of Fibrinogen. Thrombosis Research 3: 183 (1973)

- 22 von Hugo, R. and H. Graeff: Fibrinogen Derivates with a higher Molecular Weight than that of the Parent Molecul in Cord Vein Plasma of Newborns. II. Further Characterization from Pooled Plasma. Klin. Wschr. 51: 699 - 702 (1973)
- 23 Huseley, R. M. and N. V. Bang: Fibrinogen. In Bang, Beller, Deutsch and Mammen (eds.): Thrombosis and Bleeding Disorders S. 222 - 247 (Thieme Verlag, Stuttgart, 1971)
- 24 Kierulf, P.: Studies on soluble fibrin in Plasma IV: Isolation and characterization of the clottable proteins obtained from thrombin incubated plasma upon gelation with ethanol. Thrombosis Res. 3: 613 (1973)
- 25 Kitzmiller, J. L., J. E. Lang, P. F. Yelenosky and W. E. Lucas: Hematologic assays in pre-eclampsia. Amer. J. Obstet. Gynecol. 118: 362 (1974)
- 26 Kloß, G.: Statistische Untersuchungen zum Thromboembolie-Problem. Ein Beitrag aus den Universitätskliniken nach den Sektionsprotokollen des Pathologischen Institutes der Phillips-Universität Marburg / Lahn. Dissertation, Marburg 1958

- 27 Kuhn, W. und H. Graeff: Gerinnungsstörungen in der
Geburtshilfe (Thieme Verlag, Stuttgart. 1970)
- 28 Ludwig, H.: Die Beckenvenenthrombose als Komplika-
tion im Wochenbett. Fortschr. Med. 83:
129 (1965)
- 29 Maurer, H. R.: Disk-Elektrophorese. (Verlag de Gruy-
ter, Berlin 1968)
- 30 Shainoff, J. R. and J. H. Page: Significance of cryo-
profibrin in fibrinogen-fibrin conversion.
J. exp. Med. 116: 687 (1962)
- 31 Sherman, L. A.: Fibrinogen turnover: Demonstration
of multiple pathways of catabolism. J.
Lab. Clin. Med. 79: 710 (1972)
- 32 Stamm, H.: Die geburtshilfliche und gynäkologische
Embolieletalität im Raume Zentraleuropa
und Skandinavien. Geb.- und Frauenheil-
kunde 20: 675 (1960)
- 33 Straughn, W. and R. H. Wagner: A simple Method for
Preparing Fibrinogen. Thrombosis diath.
haemorrh. 16: 198 (1966)
- 34 Tafel, K. V.: Hypercoagulabilität bei gynäkologischen
Malignomen und ihre Beeinflussung durch Dex-
tran 60. Dissertation, München 1974
- 35 Zander, J.: In Gynäkologie und Geburtshilfe, Bd. II,
von Käser, O., Friedberg, V., Ober, K. G.,
Thomsen, K., Zander, J., (Hrsg.), S. 981 -
- 985, Thieme Verlag, Stuttgart, 1969

L e b e n s l a u f

Name: Anton Erich W i e d e m a n n

geboren: am 22. 12. 1947 in Dürrlauingen,
Landkreis Günzburg/Donau

Eltern: Franz und Maria Wiedemann, geb.
Weippert, Landwirtseheleute in
8871 Dürrlauingen

Schulbildg.: Volksschule Dürrlauingen von Sep-
tember 1954 bis Juli 1962

Musisches Gymnasium Niederalteich
von September 1962 bis Juli 1969
Reifeprüfung: Juli 1969

Hochschule: ab Oktober 1969 Studium der Human-
medizin an der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Staatsexamen: 18. 12. 1975

D a n k s a g u n g

Meinen Dank, daß diese Arbeit entstehen konnte, möchte ich aussprechen:

Herrn Prof. Dr. med. Henner Graeff für die Überlassung des Themas, die immer gegenwärtige Diskussionsbereitschaft und die Ermunterung in schwierigen Phasen,

Herrn Prof. Dr. med. Josef Zander für die Möglichkeit diese Arbeit an seiner Klinik ausführen zu können,

Herrn Dr. rer. nat. Reimar Hafter für die tatkräftige Unterstützung beim Auftauchen theoretischer und technischer Probleme,

Frau Eva Hoffmann für die ausdauernde Hilfe beim langwierigen Ausmessen der Gel-filtrationsläufe,

allen Wöchnerinnen und allen Frauen der Kontrollgruppe, die sich für diese Studie zur Verfügung gestellt haben.

